

# 目舒丸质量标准

张颖, 崔文, 亢泽峰\*

(中国中医科学院眼科医院, 北京 100040)

**[摘要]** 目的: 建立目舒丸的定性定量方法。方法: 采用 TLC 对目舒丸中白芍、延胡索进行定性鉴别; 采用 HPLC 对目舒丸中芍药苷进行含量测定, 色谱条件为 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水(15:85), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 进样量 10 μL, 柱温 30 °C。结果: 白芍、延胡索乙素的 TLC 鉴别简便可靠。芍药苷在 37.8 ~ 756 ng 呈良好线性关系, 平均回收率 98.2%, RSD 1.4%。结论: 建立的方法准确、可靠、专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** 目舒丸; 白芍; 延胡索; 芍药苷; 薄层色谱鉴别; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0067-04

**[doi]** 10.11653/syfyj2013220067

## Quality Standards of Mushu Pills

ZHANG Ying, CUI Wen, KANG Ze-feng\*

(Eye Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop the qualitative and quantitative methods for quality control of Mushu pills. **Method:** TLC were used as qualitative identifications of Paeoniae Radix Alba and Corydalis Rhizoma in Mushu pills; And to develop a HPLC method for determination of paeoniflorin in Mushu pills, separation was performed on ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid (15:85) as mobile phase, flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, detection wavelength was at 230 nm, injection volume 10

**[收稿日期]** 20130830(191)

**[基金项目]** 中国中医科学院眼科医院院内课题(201109)

**[第一作者]** 张颖, 副主任药师, 硕士, 从事临床药学研究, Tel:010-68663392, E-mail: zhangying3392@126.com

**[通讯作者]** \* 亢泽峰, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合眼科研究, Tel:010-68684229, E-mail: zefeng2531@163.com

[2] 许继文, 付春梅. 丹参的药理作用研究进展[J]. 医学综述, 2006, 12(23): 1467.

[3] 赵娜, 郭治昕, 赵雪, 等. 丹参的化学成分与药理作用[J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(4): 155.

[4] 王晓菊. 黄芪有效成分的提取分离及活性研究[J]. 太原: 山西大学, 2005.

[5] 蔡莉, 朱江. 黄芪多糖研究现状与进展[J]. 中国肿瘤临床, 2007, 34(15): 896.

[6] 李朝霞, 王地. 丹参水溶性成分的研究进展[J]. 北京中医, 2004, 23(3): 176.

[7] 朱璐璐, 宋英, 袁强华, 等. 咽灵合剂提取工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(11): 54.

[8] 张英丰, 朱黎霞, 梁东辉. HPLC 同时检测丹参提取物中 5 种水溶性和脂溶性成分含量[J]. 中国实验方

剂学杂志, 2012, 18(11): 76.

[9] 李井涛, 杨晓腾, 郭美玲. HPLC 法测定止痛化症片和胶囊中丹参素钠的含量[J]. 中国药事, 2011, 25(6): 600.

[10] 黄衍民, 黄炳亮, 张亚斌, 等. 高效液相色谱法测定丹红注射液中丹参素钠的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(11): 1618.

[11] 阮佳佳, 林灵超. HPLC 法测定黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量[J]. 广州化工, 2012, 40(12): 142.

[12] 黄志勤, 李洪亮, 程齐来. HPLC 测定黄芪药材中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷[J]. 光谱实验室, 2012, 29(5): 2736.

[责任编辑 全燕]

$\mu\text{L}$ , column temperature was  $30\text{ }^\circ\text{C}$ . **Result:** TLC characteristic identification was distinct and highly specific. Paeoniflorin showed a good liner relationship within the range of 37.80-756.00 ng, the average recovery was 98.2% with RSD 1.4%. **Conclusion:** This established determination method was reliable, accurate and specific, it could be used for quality control of Mushu pills.

[ **Key words** ] Mushu pills; Paeoniae Radix Alba; Corydalis Rhizoma; paeoniflorin; TLC identification; HPLC

目舒丸系我院庄曾渊教授多年经验方加工而成,由白芍、当归、熟地黄、延胡索等药味组成,具有养血活血、解痉止痛之功效,用于精血亏虚、筋脉失养证,治疗眼视疲劳症,症见眼珠隐痛、头额闷痛、不能久视、视力模糊、常欲闭目,临床疗效较好。目舒丸采用泛制法制备,将延胡索等药味加水煎煮 2 次后浓缩成清膏,白芍、当归等药味粉碎成细粉,与上述清膏及适量水泛丸,干燥,即得。为保证其临床疗效,在参照有关文献基础上<sup>[1-2]</sup>,本实验对该丸剂的质量控制方法进行研究,采用 TLC 对方中白芍、延胡索两药味进行定性鉴别,通过 HPLC 测定白芍中有效成分芍药苷含量,为目舒丸的质量标准制定提供实验依据。

## 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),ZF-6C 型紫外分析仪(上海市金鹏分析仪器有限公司),FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),AUW220D 型电子天平(日本岛津公司)。

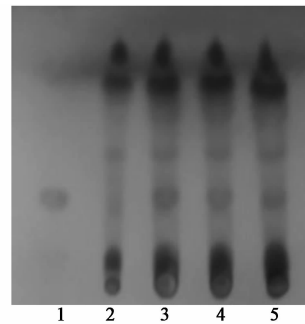
薄层色谱硅胶 G、硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工有限公司),羧甲基纤维素钠(天津市福晨化学试剂厂),目舒丸(医院自制,批号 110303,120619,120620),芍药苷、延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110736-201136,110726-201112),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

**2.1.1 白芍** 取目舒丸中粉 10 g,加丙酮 60 mL,水浴锅中加热回流 50 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。按处方组份,除去白芍,按制备工艺要求,制成不含白芍的样品,按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。另取芍药苷对照品,加甲醇制成  $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。吸取供试品溶液、阴性样品溶液各  $8\text{ }\mu\text{L}$ ,对照品溶液  $4\text{ }\mu\text{L}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-乙酸(40:5:10:0.2)为展开

剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,于  $105\text{ }^\circ\text{C}$  加热至斑点显色清晰,见图 1。显示供试品色谱中,在与对照品色谱的相应位置上,显相同的紫色斑点,说明阴性样品无干扰。



1. 芍药苷对照品;2. 阴性样品;3,4,5. 3 批供试品

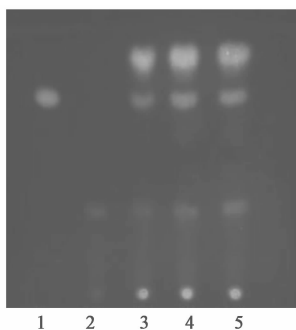
图 1 目舒丸中白芍 TLC

**2.1.2 延胡索** 取目舒丸中粉 12 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,加氨水 5 mL,用乙醚振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。按处方组份,除去延胡索,按制备工艺要求,制成不含延胡索的样品,按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。另取延胡索乙素对照品,加甲醇制成  $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。吸取供试品溶液、阴性样品溶液各  $8\text{ }\mu\text{L}$ ,对照品溶液  $4\text{ }\mu\text{L}$ ,分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮(9:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘缸中 3 min 后取出,挥尽板上吸附的碘后,置紫外灯(365 nm)下检视,见图 2。显示供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的黄绿色荧光斑点,表明阴性样品无干扰。

### 2.2 芍药苷的含量测定

**2.2.1 色谱条件** ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-0.1% 磷酸水(15:85),流速  $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,检测波长 230 nm,进样量  $10\text{ }\mu\text{L}$ ,柱温  $30\text{ }^\circ\text{C}$ 。理论塔板数按芍药苷峰计算不低于 2 000。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照



1. 延胡索乙素对照品;2. 阴性样品;3,4,5. 3批供试品

图2 目舒丸中延胡索 TLC

品 9.45 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并定容至刻度,摇匀,精密吸取该溶液 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,制成  $37.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 将目舒丸置于粉碎机中粉碎,过筛,取中粉,精密称取 2.0 g,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声提取 1 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,即得。

**2.2.4 阴性对照溶液的制备** 按目舒丸处方比例,取除白芍以外的其他处方药材,按制备工艺制备缺白芍的阴性样品,按 2.2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

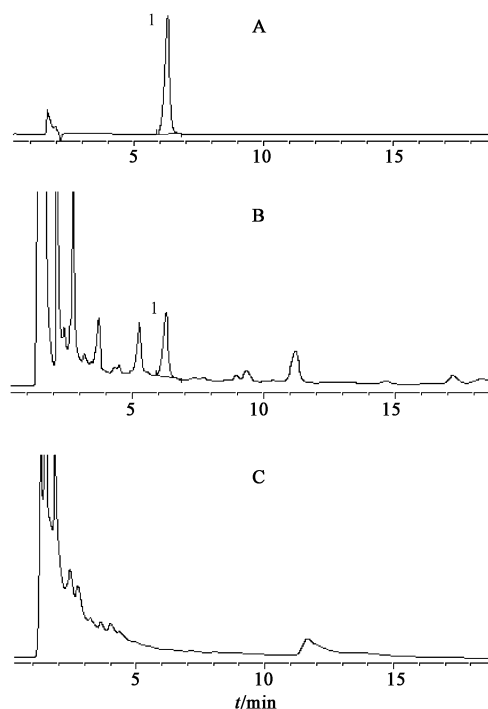
**2.2.5 系统适应性试验** 精确吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各  $10 \mu\text{L}$ ,按 2.2.1 项下色谱条件进样。结果表明供试品与对照品在对应的位置上出现色谱峰,且供试品峰分离度良好;阴性样品在该位置上无色谱峰出现,表明处方中其他药味对芍药苷的含量测定无干扰,见图 3。

**2.2.6 标准曲线的制备** 精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 10, 15, 20  $\mu\text{L}$ ,按 2.2.1 项下色谱条件测定,记录峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y = 93.216X - 68.295$  ( $r = 0.9992$ ),表明芍药苷进样量在  $37.8 \sim 756 \text{ ng}$  与峰面积积分值呈良好线性关系。

**2.2.7 精密度试验** 精密吸取供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,每次  $10 \mu\text{L}$ ,结果峰面积 RSD 0.44%,表明仪器精密度良好。

**2.2.8 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液,分别在 0, 1.5, 3, 6, 10, 15 h 进样,每次  $10 \mu\text{L}$ ,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果芍药苷峰面积 RSD 1.8%,表明供试品溶液在 15 h 内稳定性良好。

**2.2.9 重复性试验** 取同一批样品适量,共 6 份,



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 芍药苷

图3 目舒丸 HPLC

按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果芍药苷平均质量分数  $0.6019 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 1.5%,表明本方法重复性良好。

**2.2.10 加样回收率试验** 取已知含量的同一批样品(芍药苷质量分数  $0.6019 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )6 份,每份 1 g,精密称定质量,置于锥形瓶中,分别精密加入  $11.336 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的芍药苷对照品溶液 50 mL,称定质量,超声提取 1 h,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,经  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液,按 2.2.1 项下方法测定,计算回收率,结果见表 1。

**2.2.11 样品测定** 取 3 批样品,按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算每批样品中芍药苷平均质量分数分别为 0.601, 0.653, 0.707  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $n = 3$ ),RSD 分别为 0.77%, 1.3%, 1.3%。

### 3 讨论

视疲劳相当于中医“肝劳”,其主要病机是久视伤血,阴血不足,筋脉失养。庄曾渊教授、亢泽峰教授经多年研究,在临床中应用益气补血活血的中药治疗血虚证视网膜疾病取得了一定疗效,观察了临床疗效较好的益气活血中药对乙酰苯肼 (APH) 所致的实验性血虚证大鼠视网膜病理改变的影响,结

表 1 芍药苷含量测定的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中质量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	1.001 7	0.602 9	0.566 8	1.153 1	97.07	98.2	1.4
2	1.004 8	0.604 8		1.171 8	100.04		
3	1.003 9	0.604 3		1.169 1	99.66		
4	1.000 4	0.602 1		1.153 9	97.34		
5	1.000 6	0.602 3		1.157 1	97.88		
6	1.002 3	0.603 3		1.153 6	97.09		

果证明采用活血补血中药可起到减轻血虚状态、减轻血液代谢紊乱、改善视网膜微循环等作用<sup>[3]</sup>。梁丽娜副研究员观察了活血养血中药对正常新生小牛视网膜细胞、先天性视网膜变性动物模型 rds 小鼠视网膜细胞生长的影响,结果证明此类中药对体外培养视网膜神经细胞生长有较好的保护作用<sup>[4]</sup>。目舒丸由白芍、延胡索等活血养血方药组成,治疗因精血亏虚导致的视疲劳,全方标本兼治,具有良好的养血和血止痛之功。

白芍于方中起养血活血的功效,并加强柔肝息风的作用。现代药理研究表明,白芍具有护肝、抗炎、抗病原微生物、镇痛、镇静、抗惊厥等药理作用,临床用于治疗癫痫、类风湿性关节炎、细菌性痢疾及肠炎、病毒性肝炎、老年性疾病等<sup>[5]</sup>。白芍的质量控制一般以芍药苷为指标成分<sup>[6]</sup>。曾尝试采用超声提取法制备白芍 TLC 鉴别的供试品溶液,发现斑点不清晰。文献报道白芍中芍药苷的提取以加热回流提取法得率最高<sup>[7]</sup>,故改为加热回流提取法制备供试品溶液,所得结果斑点清晰。试验参考了 2010 年版《中国药典》中白芍药材<sup>[1]</sup>及文献中加味道遥丸的芍药苷含量测定方法<sup>[8]</sup>,采用了 SHIMADZU VP-ODS(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)和 ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)2 种色谱柱,结果表明前者测定时芍药苷峰有严重拖尾现象,而后的分离效果理想。

延胡索于方中起行气活血、散瘀止痛的功效。延胡索主要成分中延胡索乙素含量高,且性质稳定,具有明显的镇痛、镇静、催眠和安定作用,可作为延胡索的指标性成分。参照 2010 年版《中国药典》中延胡索药材的鉴别方法,建立了目舒丸延胡索乙素 TLC。而在延胡索乙素的含量测定研究中,考察了 2010 年版《中国药典》延胡索药材含量测定方法的甲醇-磷酸溶液流动系统<sup>[1]</sup>及壮骨止痛颗粒中延胡索乙素含量测定的乙腈-磷酸溶液流动系统<sup>[9]</sup>,但所

测延胡索乙素峰面积过小且分离效果不理想,故未建立目舒丸的延胡索乙素含量测定方法。

目舒丸中白芍及延胡索的 TLC 试验结果表明,供试品色谱在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,而阴性样品色谱在相应位置上则无对应斑点,证明本方法专属性强,可作为目舒丸质量控制中白芍和延胡索的定性方法。建立的芍药苷含量测定方法前处理简单、分离度好、灵敏度高,且重复性好、回收率高,可用于目舒丸质量控制中白芍的定量方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:97,130.  
[2] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:333.  
[3] 亢泽峰,庄曾渊,万素君,等. 益气养血活血中药对实验性血虚证大鼠视网膜病理改变的影响[J]. 中国中医眼科杂志,2000,10(4):199.  
[4] 梁丽娜,李根林,王津津,等. 中药对体外培养视网膜神经细胞的干预作用研究[J]. 眼科新进展,2004,24(6):422.  
[5] 吴菡子,熊南山. 白芍的药理研究与临床应用[J]. 中国医院药学杂志,1998,18(4):172.  
[6] 谷满仓,钱亚芳,吕圭源. 白芍的化学成分及质量控制方法研究进展[J]. 科技通报,2006,33(3):337.  
[7] 聂惠芳. 我国药典中白芍项下芍药苷提取方法的研究[J]. 医学研究通讯,2004,33(12):49.  
[8] 石勇强. 加味道遥丸的制备与质量控制[J]. 医学信息,2011(1):336.  
[9] 谢宪斌,王巨存. HPLC 法测定壮骨止痛颗粒中延胡索乙素的含量[J]. 天津医科大学学报,2013,19(1):76.

[责任编辑 仝燕]